

Исследование стентированных коронарных артерий методом пластинации

Старчик Д.А.¹, Шишкевич А.Н.², Сора М.-К.³, Овчаренко Т.А.¹.

ФГБОУ ВО «Северо-западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава России, г. Санкт-Петербург;

² Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, г. Санкт-Петербург, Россия;

³ Центр анатомии и молекулярной медицины, Университет Зигмунда Фрейда, г. Вена, Австрия

По данным Всемирной организации здравоохранения, заболевания сердечно-сосудистой системы занимают первое место в мире среди причин смертности [3]. Особое место по распространенности в популяции занимают атеросклеротические поражения стенки венечных артерий, в конечном счете приводящие к сужению сосуда и развитию ишемической болезни сердца. Основным методом оперативного лечения и профилактики нарушений коронарного кровообращения является установка металлических стентов в суженные части венечных артерий с целью их устойчивого расширения [2]. Однако, визуализация положения стента внутри венечной артерии на сегодняшний день является достаточно сложной задачей. Обычно для этого применяют коронарную ангиографию и рентгеноскопию с введением контрастного вещества, но эти методы редко позволяют четко различить имплантированный стент. Использование экспериментальной флюороскопии с более высоким разрешением иногда дает возможность визуализировать общую форму стента, но при этом не удастся оценить взаимоотношение его элементов ни с сосудистой стенкой, ни с атеросклеротическими бляшками. Отсутствие наглядных морфологических методик для изучения топографии имплантированных коронарных стентов осложняет поиск новых методов лечения ишемической болезни сердца.

Целью нашей работы стала разработка более точного морфологического метода визуализации металлических стентов внутри коронарных артерий.

Материалы и методы исследований. Для исследования нами было использовано 14 сердец человека с выраженными атеросклеротическими поражениями стенки венечных артерий. В пораженные участки артерий методом балонной коронарографии устанавливались металлические стенты моделей Axxcess, Tryton и Bios.

В качестве базовой методики морфологического исследования металлических стентов, имплантированных в венечные артерии, нами был выбран метод пластинации с помощью эпоксидной смолы. Эта техника дает возможность сохранения исходных топографических взаимоотно-

шений между анатомическими структурами, а также делает биологические ткани прозрачными. Это позволяет исследовать мелкие анатомические структуры в прямом и отраженном свете под увеличением до 20 раз [1]. После отверждения эпоксидная смола приобретает значительную твердость, что дает дополнительную возможность использовать различные способы механической обработки пластинированных образцов. Замечателен тот факт, что для пластинации по данной методике могут использоваться не только фиксированные формалином препараты, но и вообще не обработанные консервантами биологические ткани.

Для исследования стентированных венечных артерий нами был разработан протокол пластинации эпоксидной смолой, который включал 9 последовательных стадий:

1. Рассечение области сердца со стентированной артерией и изготовление экспериментального анатомического блока;
2. Обезвоживание блока;
3. Обезжиривание;
4. Импрегнация эпоксидной смолой;
5. Отверждение блока;
6. Истончение анатомического блока до толщины от 2 до 4 мм путем шлифования или распиливания;
7. Повторная пропитка полученного образца эпоксидной смолой;
8. Заключение распила в плоскую камеру и отверждение;
9. Демонтаж камеры и сканирование полученного препарата.

На первом этапе острым скальпелем производили иссечение стенки сердца, где располагалась стентированная венечная артерия. Иссеченный участок сердца включал в себя миокард с эпикардом и имел площадь от 20 до 50 кв. см, толщину – от 10 до 30 мм.

На втором этапе полученный анатомический блок обезвоживали в ацетоне при температуре - 25° С в течение 3-4 недель, заменяя раствор каждые 7 дней. Содержание воды в растворе ацетона определяли с помощью ацетометра. Обезвоживание считали законченным, когда концентрация воды в растворителе становилась меньше 2%.

Обезжиривание препаратов перед пластинацией необходимо проводить для удаления жира, который ухудшает прозрачность тканей [4, 5]. Для обезжиривания выдерживали анатомический блок в чистом ацетоне или метиленхлориде в течение двух недель при комнатной температуре, с однократной заменой раствора через 7 дней. Эти реагенты хорошо растворяют липиды, в результате чего раствор окрашивается в желтый цвет.

На четвертом этапе помещали обезвоженный и обезжиренный участок сердечной стенки в контейнер со смесью эпоксидной смолы ЭД-20 и отвердителя YD-128 в соотношении 4 к 1. Затем контейнер

размещали в вакуумной камере и понижали давление с помощью вакуумного насоса. При низком давлении растворитель начинал кипеть и всплывать на поверхность смолы в виде пузырей. В течение 24 часов смола полностью пропитывала анатомический блок, который изменял цвет и становился прозрачным.

Когда импрегнация была завершена, образец вынимали из смолы и помещали на полиэтиленовую пленку при комнатной температуре для отверждения. После того, как смола застывала в течение 2–3 дней, образец перемещали в термостат и выдерживали там при 45 °С в течение двух недель до окончательного отверждения смолы.

После окончательного отверждения анатомического блока его шлифовали наждачной бумагой или с помощью бормашины. Некоторые анатомические блоки распиливались на высокоскоростной ленточной пиле с алмазным напылением полотна при водном охлаждении.

На этапе повторной пропитки шлифы отмывали от пыли в чистом ацетоне, затем помещали их в новую смесь эпоксидной смолы и отвердителя, затем повторно пропитывали ее в вакуумной камере в течение нескольких часов, до окончания выхода пузырьков воздуха.

Когда импрегнация была завершена, анатомический блок извлекали из смолы и помещали в плоскую камеру из оргстекла глубиной 5 мм, а затем заливали новой смесью эпоксидной смолы и отвердителя. Камеру закрывали стеклом и выдерживали около 7 дней в термостате до окончательного отвердевания смолы.

На последнем этапе плоские камеры демонтировались, распилы обрезали до нужного размера, а затем сканировали на офисном сканере с высоким разрешением.

Результаты и их обсуждение. Описанная выше методика позволяет с высокой точностью визуализировать имплантированные металлические стенты. При этом оптимальная толщина препарата, которая достигается при механической обработке, составила от 2 до 4 мм, что дает возможность сканировать препарат на обычном сканере с высоким разрешением и изучать небольшие анатомические структуры в проходящем и отраженном свете.

На сканированном распиле препарата, пластинированном эпоксидной смолой четко определяются металлические стенты Axxess и Bios, расположенные внутри коронарной артерии (рисунок 1). Также легко прослеживается каждый элемент стента и его связь с артериальной стенкой. Хорошо видно, что в некоторых участках стент не касается сосудистой стенки. На препарате видны атеросклеротические бляшки белого цвета, одна из которых слева своим выступом перекрывает просвет артерии и контактирует с металлической проволокой.

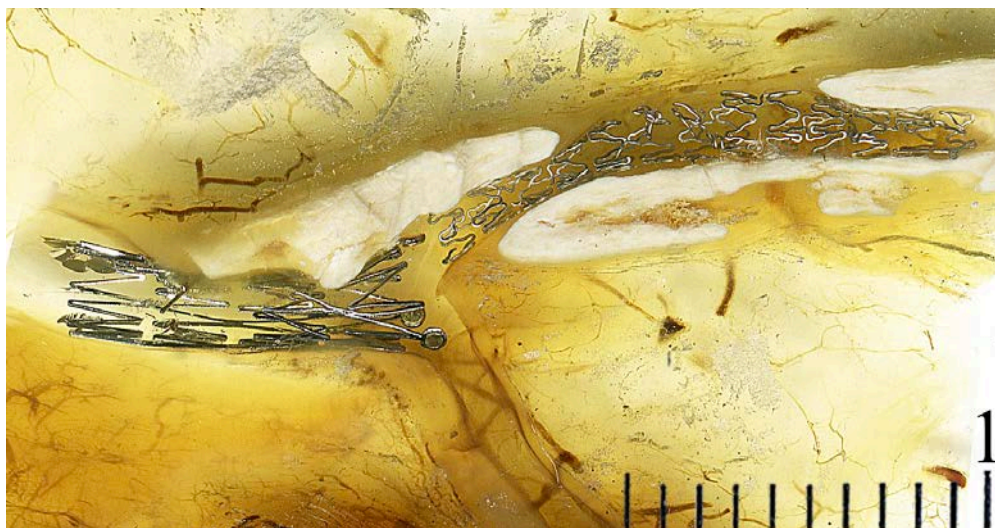


Рис. 1. Металлические стенты Axcess (слева) и Bios (справа), установленные в левую коронарную артерию. Эпоксидный пластинат стенки сердца.

На рисунке 2А демонстрируется металлический стент Tryton, имплантированный в разветвление левой венечной артерии. Этот тип стентов разработан специально для установки в места бифуркации артерий. Хорошо видно, что по сравнению с рентгенографией (рис. 2Б), которая традиционно используется в клинике, детали стента визуализируются гораздо лучше.

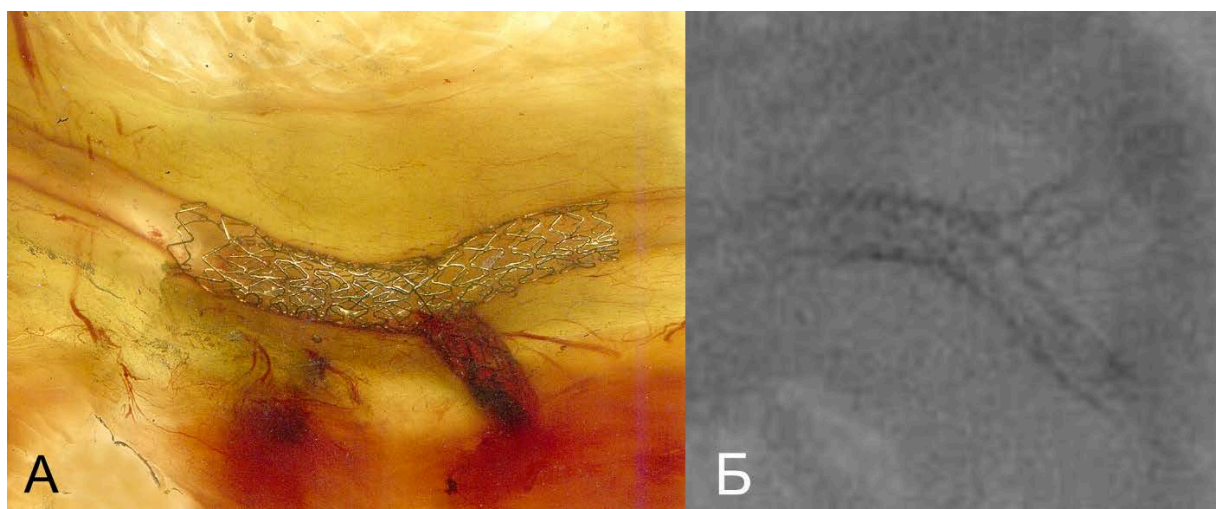


Рис. 2. Визуализация стента Tryton внутри левой коронарной артерии с помощью методики эпоксидной пластинации (А) и с помощью традиционной рентгенографии (Б).

Прозрачность и небольшая толщина препаратов, пластинированных эпоксидной смолой, дает возможность исследовать их под небольшим

увеличением. На поперечных распилах стентированных артерий (рис. 5) хорошо видно, что металлическая проволока стента деформирует внутреннюю оболочку сосуда в месте контакта.

Предложенная методика эпоксидной пластинации является одним из немногих способов, позволяющих исследовать микротопографию имплантированных металлических стентов и конструкций в органах без разрушения целостности тканей. Это дает более полную морфологическую картину и позволяет измерять степень контакта элементов стента с артериальной стенкой и атеросклеротическими бляшками. Не вызывает сомнений, что с помощью предложенного метода возможно исследовать и другие медицинские устройства и конструкции, которые могут быть имплантированы в организм человека, что существенно расширит возможности клинических исследований подобных устройств.



Рис. 3. Поперечный разрез металлического стента, имплантированного в венечную артерию. Препарат, пластинированный эпоксидной смолой (об.20, ок.10).

Литература.

1. Старчик, Д. А. Морфологические и конституциональные особенности сердца с учетом антропометрического статуса и физического развития женщин зрелого и пожилого возраста : автореф. дис. ... д-ра мед. наук / Д. А. Старчик. – Москва, 2017. – 42 с.
2. Хайрутдинов, Е. Р. Современные подходы к лечению пациентов с многососудистым поражением коронарного русла / Е. Р. Хайрутдинов, А. В. Араблинский // Международный журн. интервенц. кардиоангиологии. – 2012. – № 29. – С. 71–80.
3. Global Health Estimates 2016: Deaths by Cause, Age, Sex, by Country and by Region, 2000-2016. – Geneva : World Health Organisation. 2018.
4. Sora, M.-C. Epoxy plastination of biological tissue: E12 Technique / M.-C. Sora, P. Cook // J. Int. Soc. Plastin. – 2007. – Vol. 22. – P. 31–39.
5. von Hagens, G. The current potential of plastination / G. von Hagens, K. Tiedemann, W. Kriz // Anat. Embriol. – 1987. – Vol. 175, N 4. – P. 411–421.

УДК 57.085.4

Упрощенная технология, сокращающая трудоемкие этапы процесса пластинации

¹Стоянов Й., ¹Сиврев Д., ²Усович А.К.

¹*Тракийский университет, медицинский факультет, г.Стара Загора, Болгария;*

²*УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет, г. Витебск, Беларусь*

Стандартная технология пластинации по изготовлению гигиеничных натуральных анатомических препаратов для образовательного процесса очень трудоемка и экономически затратна [1-5]. Изготавливать по ней учебные анатомические в качестве раздаточного материала на учебные занятия и для самоподготовки не рентабельно. Для некоторых препаратов желательно изыскивать менее трудоемкие и более дешевые технологии. Сегодня на рынке имеется прозрачная литевая полиэфирная смола Norsodyne O на ортофталевой основе. Цель работы – определение возможности замены пластификаторов силиконовых Norsodyne в технологии пластинации срезов головного мозга.

Материалы и методы. Исследование выполнено на серийных срезах головного мозга человека. Контрольная группа – это срезы головного мозга, пластинированные по традиционной технологии с использованием пластификаторов P35 и P40 (*BiodurTM, Heidelberg, Germany*) [1, 5]. Этапы проведения препаратов включали применение охлажденного ацетона, холодильной камеры (-25° С) и вакуума. Весь процесс длится более двух месяцев. Экспериментальную группу составили срезы головного мозга, пластинированные с использованием пластификатора Norsodyne (*Polynt Composites USA, Bergamo, Italy*). Norsodyne, до смешивания с отвердителем, представляет собой бесцветную или слегка желтоватую жидкость с высокой вязкостью (450-650 мПа·с при 23°С) и